

연체류의 근원섬유단백질의 열 안정성에 관한 연구

신완철 · 송재철 · 김영호*

울산대학교 식품영양학과, *한국식품개발연구원

Studies on the Thermostability of Myofibrillar Proteins of Mollusca

Wan-Chul Shin, Jae-Chul Song and Young-Ho Kim*

Department of Food and Nutrition, Ulsan Univ.

* Korea Food Research Institute

Abstract

The actomyosin and myosin of the squid at 30°C showed the highest V_{max} and the actomyosin and myosin of the clam at 35°C and HMM at 25°C showed the highest V_{max} . The thermostability of myofibrillar proteins is changed greatly according to the difference of KCl concentration. The myofibrillar proteins of the clam showed a higher thermostability than the myofibrillar proteins of the squid. When 3% ethanol solution was added and heated myofibrillar proteins, denaturation was accelerated and it was shown that there was a difference between animals in the denaturation velocity.

Key words : thermostability, myofibrillar protein, mollusca, actomyosin, myosin, HMM

서론

동물체는 다양한 환경속에서도 최적의 생물활성을 유지하도록 짜여진 생물체계를 가지고 있는 것으로 예상되고 있으며 이러한 다양한 환경조건에 적응하고 생물체로서의 항상성을 유지하려면 운동기관에 있어서도 환경조건에 적응시키는 어떤 변화가 어떤 형태로든지 존재할 것으로 예상된다.

그 적응형태는 구조체의 단백질 조성에 차이를 보이거나 혹은 고차구조의 변화나 아미노산 조성의 변화 등 단백질의 내적 변화에 의한 생화학적 성질의 변화이거나 또는 양자를 합친 형태일 것이다. 이러한 근섬유단백질은 육제품의 주원료로 영양적 측면은 물론 육제품의 물성에 결정적 요인이 되고 있다¹⁻³⁾. 그러므로 근원섬유 구성단백질의 조성, 형태 및 기관 구성의 치밀도와 관련된 생물활성과 열안정성에 관한 data는 근원섬유 기능단백질의 기능적 성질 즉 막형성능, 유화능, 유화안정성, 풍미유반체로서의 기능, 결합성 및 보수성 등을 연구하는데 기초자료가 된다.

그런데 육제품의 탄력성과 열응고성에는 myosin이 주요 인자로 작용하고 있으며⁴⁻⁶⁾ 근섬유단백질 중에서 가장 유효력이 큰 것으로 알려지고 있어⁷⁾ 육제품의 물성에는 근섬유 구성단백질들이 결정적 역할을 하고 있는 것으로 예상되고 있다. 그러나 이러한 연구들은 주로 육상동물과 수산동물 중 척추동물을 이용하여 진행되어지고 있다⁸⁾. 그러므로 본 연구에서는 수산물중 무척추동물인 오징어와 대합의 근원섬유단백질의 온도의존성을 검토함으로써 연체류의 단백질 식품의 열안정성에 대한 기초자료를 얻음으로써 육제품의 품질향상에 도움이 되고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

오징어(Squid : *T. pacificus*)는 내장과 표피를 제거한 후 외투막을 chopping하여 사용하였으며, 대합(Clam : *M. lusoria*)은 껍질을 제거한 후 내전근을 모아 chopping하여 사용하였다.

2. Myofibrillar protein의 제조 방법

Actomyosin의 조제는 Matsumoto의 방법⁹⁾에 따라 조제하였으며, myosin의 조제는 Konno의 방법¹⁰⁾을 변형하여 조제하였다.

Heavymyomeromyosin(HMM)의 조제는 Lowey 등의 방법¹¹⁾을 변형하여 조제하였다. Konno의 방법을 변형하여 조제한 myosin 용액에 0.5M KCl-0.05M Tris-maleate buffer를 동량 첨가한 후 trypsin(wt%, 250:1) 1ml를 넣어 10℃에서 25분 동안 가수분해하였다. 가수분해는 2배의 trypsin inhibitor를 첨가하여서 종료시켰다. 가수분해시킨 용액을 4℃에서 24시간 동안 투석시킨 후 30,000×g에서 30분 동안 원심분리하였으며, 여기서 생성된 상등액을 gel chromatography함으로써 정제된 HMM을 얻었다. Gel chromatography는 Sephadex G-200(Column : 2.0×45.0cm)을 사용하였으며, 4℃에서 0.05M KCl-0.005M Tris-HCl buffer(pH 7.5)로써 시간당 20ml의 용출속도로 용출시켰다.

3. 단백질농도의 측정

단백질 농도는 Biuret방법에 의하여 측정되었으며, 검량선은 bovine serum albumin을 micro-Kjeldahl 법으로 분석하여 작성되었다.

4. ATPase 활성 측정

0.25mg/ml myofibrillar proteins, 10mM CaCl₂, 1mM MgCl₂ 혹은 1mM EDTA, 1mM ATP(Adenosine 5'-Triphosphate Disodium Grade I, Sigma Chemical Co.), 25mM Tris-HCl buffer(pH 8.0) 그리고 일정 염농도의 혼합액을 30℃에서 5분간 반응시켰다. 반응은 최종농도 4%인 TCA를 첨가하여 ice bath 상에서 정지시켰다. ATPase의 활성은 1mg의 단백질에 의하여 1분 동안에 유리되는 무기인산(Pi)의 μ mole로 표시하였다.

5. 단백질의 열처리 조건

단백질의 열처리는 0.05M KCl-0.005M Tris-HCl buffer(pH 7.5), 일정 염농도 및 1mg/ml 단백질의 혼합액을 20~50℃ 사이의 각 온도에서 행하였다. 각 온도에서 일정시간 간격으로 일정액을 취하여 ice bath 상에 있는 ATPase 활성측정 용액에 넣어 가열반응을 정지시킨 후 기질을 첨가하여 30℃ 항온조에서 5분간 반응시켜 효소의 잔존활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 근원섬유단백질의 활성에 대한 반응온도의 영향

Myosin에 ATP가 결합될 때는 많은 양의 자유에너지 변화가 생기게 되며 또한 myosin으로부터 유리인산을 방출하는 속도가 훨씬 커지며¹²⁾, 비교적 열에 불안정한 단백질에 속한다고 발표되고 있다¹³⁾. Yasui 등¹⁴⁾은 토끼 myosin을 이온강도 0.5~0.6에서 생리적 pH 및 온도로 처리하면 변성을 일으켜 비가역적인 ATPase의 불활성화와 분자의 응집반응을 일으킨다고 하였다. 그러므로 여러 가지 환경인자가 myosin의 생물활성과 변성속도에 미치는 영향도 동물의 종류에 따라 다르게 나타날 수 있을 것으로 예상하였다.

Fig. 1과 2는 효소학적 측면에서 myosin의 탈인산화에 대한 반응온도의 영향을 시간별로 나타낸 것이다. 오징어 myosin은 40℃에서 급격히 불활성화되고 있으며, 열안정성이 낮다는 것을 보여주고 있다. 그런데 대합 myosin의 경우에는(Fig. 2), 40℃에서도 비교적 높은 활성을 유지하고 있어서 오징어 myosin과의 차이가 명확하게 나타나고 있다. 오징어와 대합은 무척추동물로 homolymph인 점에서는 공통적이며¹⁵⁾ actomyosin의

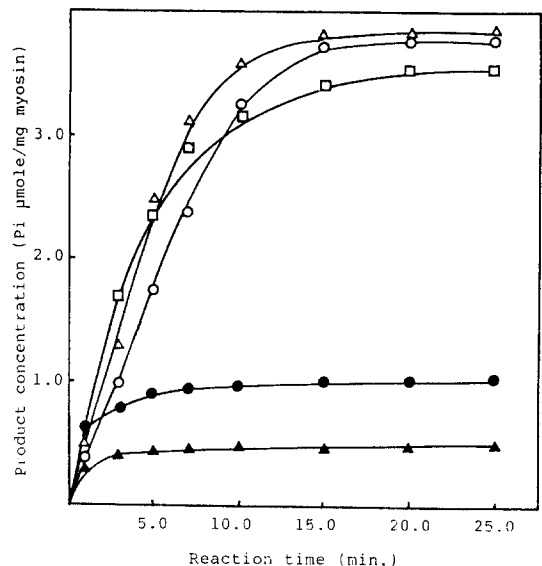


Fig. 1. Effect of temperature on rate of product formation of Squid mantle myosin.

Enz. assay : 25mM Tris-HCl buffer(pH 8.0), 0.125M KCl, 10mM CaCl₂, 1mM ATP, 0.25mg/ml myosin.

Reaction temp. : 25℃(○), 30℃(△), 35℃(□), 40℃(●), 45℃(▲).

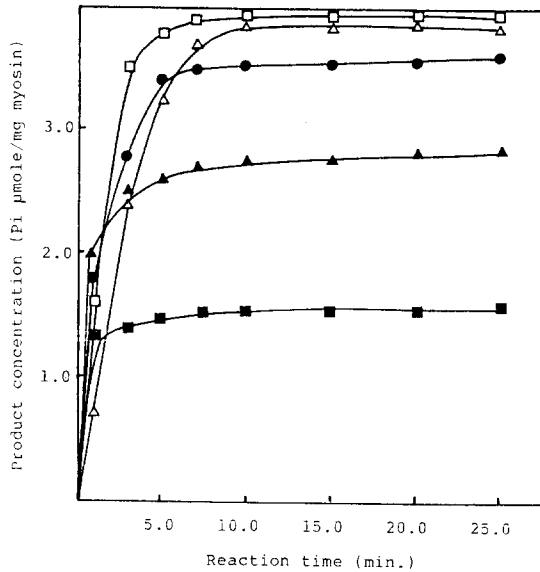


Fig. 2. Effect of temperature on rate of product formation of Clam adductor myosin.

Enz. assay : 25mM Tris-HCl buffer (pH 8.0), 0.125M KCl, 10mM CaCl₂, 1mM ATP, 0.25mg/ml myosin.

Reaction temp. : 30°C (△), 35°C (□), 40°C (●), 45°C (▲), 50°C (■).

Ca-ATPase 활성 및 EDTA-ATPase 활성의 이온강도의존성에서도 유사한 경향을 보였으나¹⁶⁾ 열안정성에

서는 명확한 특성의 차이를 보이고 있다. 따라서 오징어와 대합의 근수축성 단백질들은 비교적 열에 불안정한 단백질에 속하며 같은 무척추동물이지만 근원섬유단백질간에 생물학적인 특성의 차이가 있는 것으로 추정된다.

2. 근원섬유단백질의 기질 친화성에 대한 온도의 영향

Table 1과 2는 근원섬유단백질의 온도에 따른 K_m 값과 V_{max} 값을 나타낸 것이다.

Table 1의 오징어 myosin은 30°C, Table 2의 대합 myosin은 35°C에서 최대 V_{max} 를 나타내었으며, 최대 V_{max} 값은 오징어보다 대합이 더 크게 나타났다. Actomyosin의 경우는 오징어와 대합 모두 myosin과 같은 온도에서 최대 V_{max} 를 나타냈으며 또한 오징어가 대합보다 온도에 대해 민감하게 작용하여 기질친화성에 대한 온도의존성이 높은 것으로 나타났다.

한편 대합의 HMM은 보다 낮은 25°C에서 최대 V_{max} 를 나타내는 것으로 보아 온도에 대한 감수성이 상당히 높은 것으로 예상되었으며 이러한 온도 감수성은 actin이나 LMM이 떨어져나감으로 인해 active site가 노출되기 때문인 것으로 추정된다.

3. 근원섬유단백질의 열안정성에 대한 이온강도의 영향

Myosin ATPase 활성의 변성속도와 이온강도의 관

Table 1. Michaelis-Menten constants and maximum velocity of actomyosin and myosin from Squid mantle muscle as a function of temperature.

Temperature (°C)	Actomyosin		Myosin	
	V_{max} ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	K_m (mol)	V_{max} ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	K_m (mol)
25	1.37	1.39×10^{-3}	1.76	2.13×10^{-3}
30	1.45	1.47×10^{-3}	2.47	3.13×10^{-3}
35	0.91	0.83×10^{-3}	1.15	1.35×10^{-3}
40	0.50	0.45×10^{-3}	0.42	0.67×10^{-3}
45	0.42	0.41×10^{-3}	0.17	0.30×10^{-3}

Table 2. Michaelis-Menten constants and maximum velocity of actomyosin, myosin and HMM from Clam adductor muscle as a function of temperature.

Temperature (°C)	Actomyosin		Myosin		HMM	
	$V_{max}^{(1)}$	$K_m^{(2)}$	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m
25	1.41	1.85×10^{-3}	2.92	3.45×10^{-3}	6.29	8.33×10^{-3}
30	1.65	2.27×10^{-3}	3.42	4.17×10^{-3}	4.44	5.56×10^{-3}
35	2.40	3.70×10^{-3}	4.00	4.76×10^{-3}	2.77	3.33×10^{-3}
40	1.00	1.59×10^{-3}	1.82	2.17×10^{-3}	1.50	1.75×10^{-3}
45	0.72	1.43×10^{-3}	1.07	1.19×10^{-3}	0.81	0.96×10^{-3}

(1) $\mu\text{mol}/\text{min}$

(2) mol

Table 3. Rate constants of inactivation of actomyosin, myosin and HMM from Squid mantle and Clam adductor muscle as a function of ionic strength

Concentration of KCl(M)	Actomyosin		Myosin		HMM	
	0.1	0.5	0.1	0.5	0.1	0.5
Squid	5.5×10^{-3}	16.0×10^{-3}	20.0×10^{-3}	127.0×10^{-3}	—	—
Clam	5.8×10^{-3}	24.0×10^{-3}	8.4×10^{-3}	30.1×10^{-3}	69.5×10^{-3}	124.0×10^{-3}

Rates were measured at 35°C (Squid) and 40°C (Clam).

계에서 Yasui 등¹⁴⁾은 이온강도 0.1을 경계로 하여 그 양쪽 방향으로 myosin ATPase의 불활성화가 촉진되었다고 하였다. 한편 Kim¹⁷⁾은 포유동물과 어류에서 추출한 actomyosin의 용해도 비교에서 어류의 actomyosin이 더욱 쉽게 용해된다고 보고하였으며, 이러한 용해도의 차이는 myosin이 저이온강도에서 gel forming 능력을 지니며 고이온강도에서는 monomer 상태로 존재하기 때문인 것으로 알려져¹⁸⁾, myosin과 actin의 복합체인 actomyosin의 경우에도 염용액에 대한 용해성에서 동물의 종류에 따른 차이가 보고되고 있다¹⁹⁾.

그러므로 이온강도가 다른 염용액에 대한 용해도가 단백질의 안정성에 영향을 줄 것으로 예상되어 연체동물의 근원섬유단백질을 저이온강도와 고이온강도에서 시간별로 가온하여 변성의 정도를 잔존활성으로 비교하여 보았다.

Table 3은 오징어와 대합의 변성속도를 나타낸 것으로 변성속도는 이온강도의 변화에 따라 현저한 차이를 보여주고 있다. 오징어의 actomyosin과 myosin 둘 다 이온강도 0.5에서 상당히 높은 변성속도를 나타내고 있으며, 또한 이온강도에 관계없이 myosin이 actomyosin보다 높은 변성속도를 보여주었으며 이러한 현상은 대합에서도 똑같이 나타나고 있다. 이와 같은 현상은 염농도의 증가에 따라 용액의 극성이 커짐으로 인해 myosin 머리의 비극성 부분에 소수성 결합이 강하게 일어나기 때문인 것으로 판단되나 보다 자세한 조사가 요구된다.

대합의 myosin과 HMM에서 나타난 변성속도의 차이는 LMM에 의해서 기인되는 것으로 예상되나 앞으로 더욱 연구를 필요로 하며 근수축성단백질의 변성기작에는 이온강도의 영향이 크게 나타난다는 것을 확인하였다.

4. 근원섬유단백질의 열안정성에 대한 온도의 영향

근원섬유단백질의 변성속도와 온도와의 관계에서도 근원섬유단백질의 출처에 따라 특성이 나타날 것으로 예상되어 조제된 근원섬유단백질들을 여러 온도조건에서 처리하여 변성의 열역학량을 비교, 검토하였다.

Fig. 3과 4는 오징어와 조개의 근원섬유단백질들의 변성속도의 온도 의존성을 나타낸 Arrhenius plot으로 이에 해당하는 열역학량을 Table 4에 나타내었다.

Yasui 등²⁰⁾은 myosin의 열변성에 대하여 비가역적인 반응이라고 하였으며 일차반응속도로 일어난다고 하였는데 오징어와 대합의 근원섬유단백질을 각 온도별로 가열하였을 때 열변성이 일차반응속도로 나타나 이미 보고된 사실들^{21,22)}과 잘 일치함을 나타냈으며, 변성속도는 온도가 증가함에 따라 급격히 증가함을 나타내었다(Fig. 3).

각 온도에서의 근원섬유단백질들의 변성속도에 대해 비교하여 보면 오징어와 대합 둘다 myosin이 actomyosin에 비해 높게 나타나고 있는데 이러한 결과들은 F-actin이 myosin의 열안정성을 높인다는 이제까지의 보고들과도 일치하고 있다^{23,24)}. 한편 오징어의 근원섬유단백질이 대합보다 열에 의한 변성이 큰 것으로 나타나고 있는데 이는 Table 4의 열역학량에서도 잘 나타나

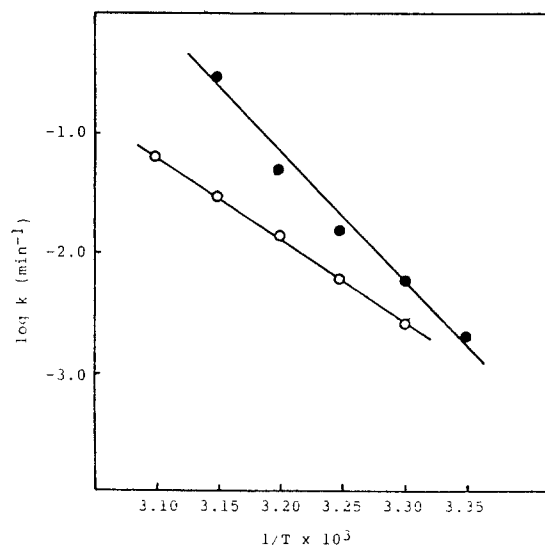


Fig. 3. Arrhenius plot of the effect of temperature on the rate of denaturation of actomyosin(○) and myosin(●) from Squid mantle muscle.

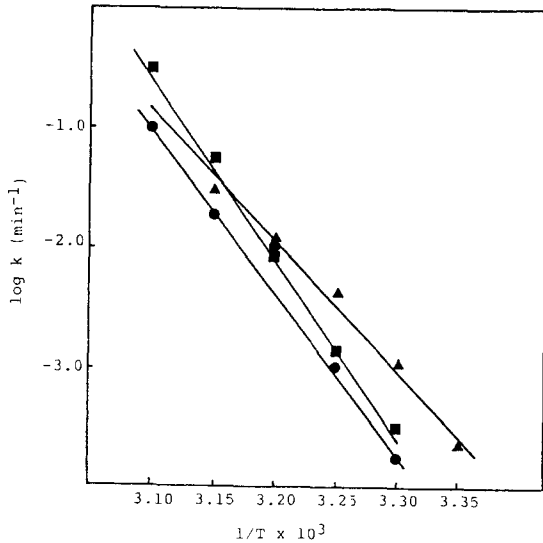


Fig. 4. Arrhenius plot of the effect of temperature on the rate of denaturation of actomyosin(●), myosin(▲), and HMM(■) from Clam adductor muscle.

고 있다. 따라서 같은 연체동물의 근원섬유단백질에 있어서도 구성 분자간의 bond수와 종류 그리고 compactness의 정도에 차이가 있을 것으로 예상되나 이러한 동물의 종류에 따른 차이는 보다 정밀하고 체계적인 분석을 하여야만 그 원인을 밝힐 수 있을 것으로 생각된다.

5. 근원섬유단백질의 열 안정성에 대한 유기용매의 영향

근원섬유단백질의 활성이 유기용매의 농도 및 종류에 따라서 커다란 영향을 받는다는 것을 이미 나타낸 바 있어 본 실험은 근원섬유단백질의 활성을 증가시켰던 3%의 에탄올을 첨가하여 40°C에서 가온한 후 가온한 시간에 따른 활성의 변화를 측정하였다. 그 결과 Table 5에 나타난 바와 같이 에탄올을 첨가했을 경우의 열변성은 에탄올을 첨가하지 않았을 때(Table 3) 보다 약 2~3 배로 가속화되고 있다. 그러나 무척추동물의 경우에는 육상동물과는 달리 변성이 2단계로 진행되어 first stage(가온 후 5분)에서 급격하게 변성을 일으키고 난 뒤 second stage에서는 변성속도가 감소되는 양상을 보이고 있다.

또한 오징어의 근원섬유단백질이 대합보다 높은 변성속도를 나타내며, actomyosin이 myosin보다 높은 열안정성을 나타내 앞의 결과들과 일치하는 현상을 보여 주고 있다.

결론

본 연구는 식량자원으로서 중요한 단백질원이며 근수축에 직접 관여하는 근원섬유단백질을 오징어와 대합에서 추출하여 연체류의 근원섬유단백질에 대한 일반적인 특성과 열안정성에 대하여 비교 검토한 결과로서 오징어의 actomyosin과 myosin은 30°C에서 최대 V_{max} 를

Table 4. D, Z-value and thermodynamic data for inactivation of myofibrillar protein from Squid mantle and Clam adductor muscle.

	D (min)				45(°C)	Z (°C)	$\Delta H^\#$ (cal/mol)	$\Delta G^\#$ (cal/mol)	$\Delta S^\#$ (cal/mol)	Bonds broken No ^a
	25	30	35	40						
Squid AM	—	—	427	168	85	14.6	30,477	23,524	21.8	6
myosin	1,270	400	115	51	7	9.2	46,414	21,928	77.0	9
Clam AM	38,383	8,530	2,843	394	127	8.9	47,546	23,791	74.7	10
myosin	9,212	1,645	337	274	66	9.9	43,377	23,374	62.9	9

^a No of non-covalent bonds broken on denaturation= $\Delta H^\# / 5,000$ cal wher the average $\Delta H^\#$ per bond is assumed to be 5,000 cal/mol.

Table 5. Rate constants of inactivation of actomyosin, myosin and HMM from Squid mantle and Clam adductor muscle in 3% ethanol solution.

Myofibrillar proteins	Squid		Clam	
	First	Second	First	Second
Actomyosin	53.0×10^{-3}	25.0×10^{-3}	45.0×10^{-3}	14.0×10^{-3}
Myosin	137.0×10^{-3}	37.0×10^{-3}	62.0×10^{-3}	20.0×10^{-3}

Rates were measured at 40°C.

나타냈으며, 대합의 actomyosin과 myosin은 35℃에서, HMM은 25℃에서 최대 V_{max} 를 나타냈다.

또한 근원섬유단백질의 열안정성은 염농도의 차이에 따라 크게 변하여, 염농도가 높을수록 변성의 정도가 크게 나타났다. 한편, 대합의 근원섬유단백질들이 오징어의 근원섬유단백질보다 높은 열안정성을 나타냈으며, 둘 다 actomyosin이 myosin보다 높은 열안정성을 나타냈다. 그리고 3%의 에탄올을 첨가하여 가온하면 근원섬유단백질들의 변성은 가속화되는 현상을 나타냈으며 육상동물과는 달리 변성이 2단계로 진행되었고 변성 속도에 있어서도 동물간에 차이가 있는 것으로 나타났다. 따라서 동물의 종류에 따라 근원섬유단백질간의 열안정성에 차이가 있다는 것을 알 수 있었으며 이의 해명에 대해서는 앞으로 많은 연구가 요구된다.

요 약

오징어의 actomyosin과 myosin은 30℃에서 최대 V_{max} 를 나타냈고 대합의 actomyosin과 myosin은 35℃에서, HMM은 25℃에서 최대 V_{max} 를 보였다. 또한 근원섬유단백질의 열안정성은 염농도의 차이에 따라 크게 변하여 염농도가 높을수록 변성의 정도가 컸으며 대합의 근원섬유단백질들이 오징어의 근원섬유단백질보다 높은 열안정성을 나타냈다. 근원섬유단백질에 3%의 에탄올을 첨가하여 가온하면 변성은 가속화되었으며 변성속도에 있어서도 동물간에 차이가 있는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Kastner, C. L. and Lussel, T. S. : Characteristics of convectively and hot-boned bovine muscle excised at various conditioning periods, *J. Food Sci.*, **40**, 747 (1975).
- Ikeuchi, Y., Ito, T. and Fukazawa, J. : Change of regulatory activity of tropomyosin and troponin on acto-heavy-meromyosin ATPase during postmortem storage of muscle, *J. Food Sci.*, **45**, 13 (1980).
- Ishiura, S., Sugita, H., Suzuki, K. and Imahori, I. : *J. Biochem.*, **87**, 343 (1980).
- Naganis, P. A., Wolfe, F. H. and Soll, D. E. : Calcium activated neutral protease hydrolyzes z-disk actin, *J. Food Sci.*, **47**, 1358 (1982).
- Ishioroshi, M., Samejima, K. and Yasui, T. : Heat-induced gelation of myosin filaments at low salt concentration, *Agri. Biol. Chem.*, **47**, 2807 (1983).
- Samejima, K., Ishioroshi, M. and Yasui, T. : Scanning calorimetric studies on the thermal denaturation of myosin and its subfragments, *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2373 (1983).
- Yasui, T., Ishioroshi, M. and Samejima, K. : Heat-induced gelation of myosin in the presence of actin, *J. Food Biochem.*, **4**, 61 (1982).
- Hamm, R. and Hodmann, K. : Changes in the sulfhydryl and disulfide groups in beef muscle proteins during heating, *Nature*, **207**, 1269 (1965).
- Yang, R., Hong, S. P., Shin, W. C. and Song, J. C. : Study on the thermostability of contractile myofibrillar proteins from fish muscle, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **20**, 862 (1988).
- Matsumoto, J. J. : On AM of squid muscle from salt-extract : Preparation of AM, *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, **24**, 125 (1958).
- Konno, K. : Two Ca regulation system in speed (*Onmastrephes sloani pacificus*) muscle, *J. Biochem.*, **84**, 1431 (1978).
- Lowey, S. and Cohen, C. : Studies on the structure of myosin, *J. Mol. Biol.*, **4**, 293 (1962).
- Squire, J. : The structural basis of muscular contraction, Plenum Press, New York and London, p528 (1981).
- Goody, R. S., Hofmann, W. and Mannherz, H. G. : *Eur. J. Biochem.*, **78**, 317 (1977).
- Jacobson, A. L. and Handerson, J. : Temperature sensitivity of myosin and AM, *Can. J. Biochem.*, **51**, 71 (1973).
- Yasui, T., Ishioroshi, M. and Samejima, K. : *Kagaku to Seibutsu*, **19**, 337 (1981).
- Bowen, W. J. and Kerwin, T. B. : A study on the effect of EDTA on myosin ATPase, *J. Biol. Chem.*, **211**, 237 (1954).
- In Press
- Kim, C. J. : Comparative biochemical study on the contractile protein of muscle, M.D. Thesis, Yonsei Univ. (1975).
- Kaminor, B. : Myosin filamentogenesis ; Effect of pH and ionic concentration, *J. Mol. Biol.*, **20**, 391 (1966).
- Yang, R., Oh, D. W., Shin, W. C. and Lee, Y. K. : Studies on the functional properties of meat for meat product, *Yonsei Engineering Report*, **14**, 99 (1982).
- Yasui, T., Hashimoto, Y. and Tonomura, Y. : Physicochemical studies on denaturation of myosin-adenosintriphosphatase, *Arch. Biochem. Biophys.*, **87**, 55 (1960).
- Hashimoto, A., Kobayashi, A. and Arai, K. : Thermostability of fish myofibrillar Ca-ATPase and adaptation to environmental temperature, *Bull. Jap. Soc. Fish.*, **48**(50), 671 (1982).
- Hashimoto, A. and Arai, K. : The effect of pH and temperature on the stability of myofibrillar Ca-ATPase from some fish species, *Bull. Jap. Soc. Fish.*, **44**, 1389 (1978).
- Yasui, T. : Thermal denaturation of myosin, HMM and S-1, *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 1236 (1971).
- Yasui, T., Kawakami, H. and Morita, T. : Thermal inactivation of myosin A-adenosine triphosphatase in the presence of F-actin, *Agric. Biol. Chem.*, **32**, 225 (1968).